

09/881.062
016790/0422



Prioritätsbescheinigung über die Einreichung einer Patentanmeldung

Aktenzeichen: 100 30 013.8

Anmeldetag: 17. Juni 2000

Anmelder/Inhaber: Leica Microsystems Heidelberg
GmbH, Heidelberg, Neckar/DE

Bezeichnung: Anordnung zum Untersuchen mikroskopi-
scher Präparate mit einem Scanmikroskop
und Beleuchtungseinrichtung für ein Scan-
mikroskop

IPC: G 02 B, G 02 F

Die angehefteten Stücke sind eine richtige und genaue Wiedergabe der ur-
sprünglichen Unterlagen dieser Patentanmeldung.

München, den 07. Juni 2001
Deutsches Patent- und Markenamt
Der Präsident
Im Auftrag

wehner

**Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer Präparate mit einem
Scanmikroskop und Beleuchtungseinrichtung für ein Scanmikroskop**

Die Erfindung betrifft eine Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer
Präparate mit einem Scanmikroskop. Im Besonderen betrifft die Erfindung
5 eine Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer Präparate mit einem
Scanmikroskop, das einen Laser und ein optisches Mittel umfasst, das das
von dem Laser erzeugte Licht auf eine zu untersuchende Probe abbildet. Das
Scanmikroskop kann auch als konfokales Mikroskop ausgestaltet sein.

Des Weiteren betrifft die Erfindung eine Beleuchtungseinrichtung für ein
10 Scanmikroskop.

In der Scanmikroskopie wird eine Probe mit einem Lichtstrahl abgerastert.
Hierzu werden oft Laser als Lichtquelle eingesetzt. Aus der EP 0 495 930:
„Konfokales Mikroskopsystem für Mehrfarbenfluoreszenz“ ist beispielsweise
ein Anordnung mit einem einzelnen, mehrere Laserlinien emittierenden Laser
15 bekannt. Derzeit werden hierfür meist Mischgaslaser, insbesondere ArKr-
Laser, eingesetzt.

Im Einsatz sind auch Diodenlaser und Festkörperlaser.

Aus der Patenschrift US-A-5,161,053 mit dem Titel „Confocal Microscope“ ist
ein konfokales Mikroskop bekannt, bei dem Licht einer externen Lichtquelle
20 mit Hilfe einer Glasfaser zum Strahlengang des Mikroskops transportiert wird
und das Ende der Glasfaser als Punktlichtquelle dient, so dass eine
mechanische Blende überflüssig wird.

Das Emissionsspektrum von Lasern ist auf einen schmalen
Wellenlängenbereich eingegrenzt, so dass zur simultanen Mehrlinienanregung
25 das Licht mehrerer Laser zu einem Beleuchtungsstrahl vereinigt werden
muss.

Die als Mehrlinienlaser meist eingesetzten Gaslaser sind sehr aufwendig und teuer. Darüber hinaus sind sie sehr wartungsbedürftig, was den Dauereinsatz bei vielen mikroskopischen Anwendungen erschwert.

5 Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Scanmikroskop zu schaffen, das die Probenuntersuchung mit mehreren spektralen Linien ermöglicht, ohne dabei auf den Einsatz vom Mehrlinienlaser angewiesen zu sein.

Die objektive Aufgabe wird gelöst durch eine Anordnung, die dadurch gekennzeichnet ist, dass zwischen dem Laser und dem optischen Mittel ein optisches Bauelement vorgesehen ist, das das vom Laser erzeugte Licht bei
10 einmaligem Durchlauf spektral verbreitert.

Eine weitere Aufgabe der Erfindung ist es, eine Beleuchtungseinrichtung für ein Scanmikroskop zu schaffen, die weitere spektrale Bereiche zugänglich macht, die bisher nicht adressierbar waren.

Die objektive Aufgabe wird gelöst durch eine Beleuchtungseinrichtung, die
15 dadurch gekennzeichnet ist, dass an der Lichtaustrittsöffnung ein optisches Bauelement angebracht ist, das aus photonic-band-gap-material besteht.

Das optische Bauelement in der Form eines „photonic-band-gap-material“ hat den Vorteil, dass durch den optisch nichtlinearen Aufbau der Faser ein kurzer Laserimpuls verbreitert wird und somit ein spektral breites, kontinuierliches
20 Lichtspektrum entsteht. Bei „Photonic-band-gap-material“ handelt es sich um mikrostrukturiertes durchsichtiges Material. Meist durch Zusammenfügen von verschiedenen Dielektrika lässt sich dem resultierenden Kristall eine Bandstruktur für Photonen aufprägen, die an die elektronische Bandstruktur von Halbleitern erinnert.

25 Die Technik wird neuerdings auch bei Lichtleitfasern verwirklicht. Die Fasern werden durch Ausziehen von strukturiert angeordneten Glasrohren hergestellt. Den Fasern liegt eine besondere Struktur zugrunde: In Faserrichtung sind kleine Kanülen frei gelassen, die einen Abstand von etwa 2-3 μm und einen Durchmesser von ca. 1 μm haben und meist mit Luft gefüllt sind. In der Mitte
30 der Faser liegt keine Kanüle vor. Diese Art von Fasern sind als "photon crystal fibres", „holey fibers“ oder „microstructured fibers“ bekannt.

"Photon crystal fibres" können für die Erzeugung einer kontinuierlichen spektralen Verteilung über den gesamten sichtbaren Wellenlängenbereich eingesetzt werden. Hierzu wird das Licht eines Kurzpulslasers in die Faser eingekoppelt. Durch den optisch nichtlinearen Aufbau der Faser verbreitert sich das Frequenzspektrum des Lasers. Es entsteht ein spektral breites, kontinuierliches Lichtspektrum.

Zum Einsatz in der Mikroskopie ist es wichtig, Mittel zur Wellenlängenauswahl und zur Lichtleistungsstabilisierung zu implementieren. Daher lässt sich in vorteilhafter Weise ein solcher Faserlaser mit akusto- oder elektrooptischen, einstellbaren Filtern (AOTF), mit akusto- oder elektrooptischen Deflektoren (AOD), akusto- oder elektrooptischen Strahlteilern (AOBS) kombinieren. Diese können zum einen zur Wellenlängenauswahl als auch zur Ausblendung des Detektionslichtes verwendet werden (unsere deutsche Anmeldung DE 199 06 757 A1: „Optische Anordnung“).

Insbesondere in der konfokalen Mikroskopie lässt sich das Faseraustrittsende als Punktlichtquelle nutzen, wodurch die Verwendung einer Anregungsblende überflüssig wird. Bei einer solchen Ausgestaltung wäre es von besonderem Vorteil, das Faserende selbst teilreflektierend zu beschichten, so dass dieser Teilreflektor einen Resonatorendspiegel bildet.

In weiteren Ausführungsformen sind Vorrichtungen zur Kompensation von Lichtleistungsschwankungen vorgesehen. Beispielsweise kann eine Regelschleife zur Lichtleistungsstabilisierung eingebaut werden, die parasitär die Lichtleistung im Strahlengang des Mikroskops misst und beispielsweise durch Variation der Pumplichtleistung oder mit Hilfe eines akusto- oder elektrooptischen Elements die Probenbeleuchtungslichtleistung konstant hält. Zu diesem Zweck könnten auch LCD-Abschwächer verwendet werden.

Ein weiterer Vorteil der Erfindung ist, wenn die Beleuchtungseinrichtung bereits entsprechend gestaltet ist, dass sie mehrere spektrale Bereiche zur Beleuchtung liefert. Der Laser, der die Beleuchtungseinrichtung für ein Scanmikroskop darstellt, hat an der Lichtaustrittsöffnung ein optisches Bauelement befestigt. Das optische Bauelement besteht aus photonic-band-gap-material. Ferner kann das photonic-band-gap-material als Lichtleitfaser

ausgestaltet sein.

In der Zeichnung ist der Erfindungsgegenstand schematisch dargestellt und wird anhand der Figuren nachfolgend beschrieben. Dabei zeigen:

- Fig. 1 eine erfindungsgemäße Anordnung mit einem
5 Konfokalmikroskop,
Fig. 2 eine Anordnung, bei der auf ein Beleuchtungspinhole
 verzichtet wurde, und
Fig. 3 eine Anordnung mit Lichtleistungsstabilisierung.

Fig. 1 zeigt ein Konfokalmikroskop, das ein optisches Bauelement 3 zur
10 Aufweitung eines von einem Puls laser 1 erzeugten Laserimpulses verwendet.
Der Puls laser 1 definiert einen gepulsten Laserstrahl 2, der durch das optische
Bauelement 3 geleitet wird. Das optische Bauelement 3 ist ein „photonic-
band-gap-material“. Aus dem optischen Bauelement 3 tritt ein spektral
15 breitbandiges Beleuchtungslicht 4 aus, das von einer ersten Optik 5 auf ein
Beleuchtungspinhole 6 abgebildet wird und dann auf einen Strahlteiler 7 trifft.
Vom Strahlteiler 7 gelangt das spektral breitbandige Beleuchtungslicht 4 zu
einer zweiten Optik 8, die einen parallelen Lichtstrahl 4a erzeugt, der auf
einen Scanspiegel 9 trifft. Dem Scanspiegel 9 sind mehrere Optiken 10 und 11
20 nachgeschaltet, die den Lichtstrahl 4a formen. Der Lichtstrahl 4a gelangt zu
einem Objektiv 12, von dem er auf eine Probe 13 abgebildet wird. Das von der
Probe reflektierte oder ausgesendete Licht definiert einen
Beobachtungsstrahlengang 4b. Das Licht des Beobachtungsstrahlengang 4b
tritt abermals durch die zweite Optik 8 und wird auf ein Detektionspinhole 14
abgebildet, das vor einem Detektor 15 sitzt. Durch das optische Bauelement 3
25 ist es möglich, das für die Untersuchung der Probe 13 notwendige Laserlicht
entsprechend dem gewünschten Spektrum zu erzeugen.

Das in Fig. 2 dargestellte Ausführungsbeispiel zeigt ein Konfokalmikroskop,
bei dem auf das Beleuchtungspinhole 6 verzichtet wurde. Alle Elemente, die
mit den Elementen aus Fig. 1 übereinstimmen, sind mit dem gleichen
30 Bezugszeichen bezeichnet. Bei diesem Ausführungsbeispiel ist an Stelle der
ersten Optik 5 ein AOTF 16 (acousto optical tunable filter) eingesetzt, der mit

einer entsprechenden AOTF-Ansteuerung 17 verbunden ist. Da das optische Bauelement 3 ein breitbandiges Beleuchtungslicht 4 erzeugen kann, ist es notwendig, Mittel zur Wellenlängenauswahl und Lichtleistungsstabilisierung vorzusehen. In vorteilhafter Weise kann man akusto- oder elektrooptisch einstellbare Filter (AOTF) mit akusto- oder elektrooptischen Deflektoren (AOD) und akusto- oder elektrooptischen Strahlteilern (AOBS) kombinieren. Diese können zum einen zur Wellenlängenauswahl als auch zur Ausblendung des Detektionslichtes verwendet werden. Dem AOTF 16 ist ferner ein Strahlsumpf 18 zugeordnet, der die nicht verwendeten spektralen Anteile der Beleuchtungslicht fängt, um unnötige Störungen des Scanmikroskops zu vermeiden.

Eine weitere Ausführungsform der Erfindung ist in Fig. 3 dargestellt. Hier ist an Stelle des optischen Bauelements 3 eine Lichtleitfaser 20 verwendet, die aus dem photonic-band-gap-material besteht. Vom Pluslaser 1 wird der gepulste Laserstrahl 2 über eine Optik 19 in ein Eintrittsende 20a der Lichtleitfaser 20 eingekoppelt. Da die Lichtleitfaser 20 aus dem photonic-band-gap-material aufgebaut ist, tritt aus einem Austrittsende 20b ein spektral verbreiteter Laserimpuls aus, der über eine Optik 21 ausgekoppelt wird. Bevor der spektral verbreiterte Laserimpuls auf das Beleuchtungspinhole 6 trifft, wird eine spektrale Filterung vorgenommen. Dazu sind mehrere Farbfilter 24 auf einem Revolver 23 angeordnet. Über einen Motor 22 ist der Revolver 23 drehbar, so dass die entsprechenden Farbfilter 24 in den Strahlengang eingebracht werden können. Ebenso ist eine lineare Anordnung der Farbfilter 24 denkbar, dabei werden die Farbfilter 24 mittels einer Linearbewegung in einen Beleuchtungsstrahlengang 50 verfahren. Der Beleuchtungsstrahlengang 50 nach dem Beleuchtungspinhole 6 ist mit dem Strahlengang aus Fig. 1 vergleichbar. Wie bereits in Fig. 1 erwähnt, lenkt der Strahlteiler 7 das Licht auf den Scanspiegel 9. Ein Teil des Licht tritt durch den Strahlteiler 7 hindurch und definiert einen Verluststrahlengang 50a. Dieser Anteil des Lichts ist für die Beobachtung oder Messung verloren. Aus diesem Grunde ist im Verluststrahlengang 50a ein Detektor 25 vorgesehen, der das Verlustlicht bestimmt und daraus eine elektronische Größe ermittelt, die mittels einer Leitung 30 an eine Regelungselektronik 26 geleitet wird. Die

- Regelungselektronik 26 ist über eine weitere Leitung 32 mit dem Puls laser 1 verbunden. Über die Leitung 32 regelt die Regelungselektronik 26 die Intensität des Puls lasers 1 in der Weise, dass an der Probe 13 immer eine konstante Lichtleistung auftritt. Beispielsweise kann eine Regelschleife zur
- 5 Lichtleistungsstabilisierung derart vorgesehen sein, dass sie parasitär die Lichtleistung im Strahlengang des Mikroskops misst und beispielsweise durch Variation der Pumplichtleistung oder mit Hilfe eines akusto- oder elektrooptischen Elements die Probenbeleuchtungslichtleistung konstant hält. Zu diesem Zweck könnten auch LCD-Abschwächer verwendet werden.
- 10 Die Erfindung wurde in Bezug auf eine besondere Ausführungsform beschrieben. Es ist jedoch selbstverständlich, dass Änderungen und Abwandlungen durchgeführt werden können, ohne dabei den Schutzbereich der nachstehenden Ansprüche zu verlassen.

Bezugszeichenliste

	1	Pulslaser
	2	Gepulster Laserstrahl
5	3	optisches Bauelement
	4	Spektral breitbandiges Beleuchtungslicht
	4a	Lichtstrahl
	4b	Beobachtungsstrahlengang
	5	Optik
10	6	Beleuchtungspinhole
	7	Strahlteiler
	8	Optik
	9	Scanspiegel
	10	Optik
15	11	Optik
	12	Objektiv
	13	Probe
	14	Detektionspinhole
	15	Detektor
20	16	AOTF (acousto optical tunable filter)
	17	AOTF-Ansteuerung
	18	Strahlsumpf
	19	Optik
	20	photonic-band-gap-Lichtleitfaser
25	20a	Eintrittsende
	20b	Austrittsende
	21	Optik
	22	Motor
	23	Revolver
30	24	Farbfilter
	25	Detektor
	26	Regelungselektronik
	30	Leitung
	32	Leitung

50 Beleuchtungsstrahlengang

50a Verluststrahlengang

Patentansprüche

1. Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer Präparate mit einem Scanmikroskop, das einen Laser (1) und ein optisches Mittel (12) umfasst, das das von dem Laser (1) erzeugte Licht auf eine zu untersuchende
- 5 Probe (13) abbildet, **dadurch gekennzeichnet**, dass zwischen dem Laser (1) und dem optischen Mittel (12) ein optisches Bauelement (3, 20) vorgesehen ist, das das vom Laser (1) erzeugte Licht bei einmaligem Durchlauf spektral verbreitert.
2. Scanmikroskop nach Anspruch 1, **dadurch**
- 10 **gekennzeichnet**, dass das optische Bauelement (3, 20) aus photonic-band-gap-material besteht.
3. Scanmikroskop nach Anspruch 2, **dadurch**
- gekennzeichnet**, dass das photonic-band-gap-material als Lichtleitfaser (20) ausgestaltet ist.
- 15 4. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 3, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Laser (1) ein Pulslaser ist.
5. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 4, **dadurch gekennzeichnet**, dass dem optischen Bauelement (3, 20) Mittel (16, 18 und/oder 23, 24) zum Abschwächen und/oder Ausblenden des Lichtes
- 20 mindestens einer Wellenlänge oder mindestens eines Wellenlängenbereichs nachgeordnet sind.
6. Scanmikroskop nach Anspruch 5, **dadurch**
- gekennzeichnet**, dass zum Abschwächen und/oder Ausblenden des Lichtes mindestens ein spektral selektiver Filter (24) vorgesehen ist.

7. Scanmikroskop nach Anspruch 6, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Filter ein dichroitischer Filter (24) ist.
8. Scanmikroskop nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass zum Abschwächen und/oder Ausblenden des Lichtes
5 ein akustooptischer Filter (16) (AOTF: acousto optical tunable filter) vorgesehen ist.
9. Scanmikroskop nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass zum Abschwächen und/oder Ausblenden des Lichtes ein akustooptischer Deflektor (AOD: acousto optical deflector) vorgesehen ist.
10. Scanmikroskop nach Anspruch 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass zum Abschwächen und/oder Ausblenden des Lichtes
10 ein LCD-Abschwächer vorgesehen ist.
11. Scanmikroskop nach einem der Ansprüche 1 bis 5, **dadurch gekennzeichnet**, dass Mittel (25, 26) zur Lichtleistungsstabilisierung
15 vorgesehen sind.
12. Scanmikroskop nach Anspruch 11, **dadurch gekennzeichnet**, dass zur Lichtleistungsstabilisierung ein Regelkreis vorgesehen ist.
13. Scanmikroskop nach einem der vorherigen Ansprüche, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Scanmikroskop ein Konfokalmikroskop
20 ist.
14. Scanmikroskop nach Anspruch 13, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Austrittsende (20b) der Lichtleitfaser (20) als Beleuchtungsblende dient.
15. Beleuchtungseinrichtung für ein Scanmikroskop mit einem Laser (1), der eine Lichtaustrittsöffnung umfasst, **dadurch gekennzeichnet**, dass an der Lichtaustrittsöffnung ein optisches Bauelement (3, 20) angebracht
25 ist, das aus photonic-band-gap-material besteht.
16. Beleuchtungseinrichtung nach Anspruch 15, **dadurch gekennzeichnet**, dass das photonic-band-gap-material als Lichtleitfaser (20)
30 ausgestaltet ist.

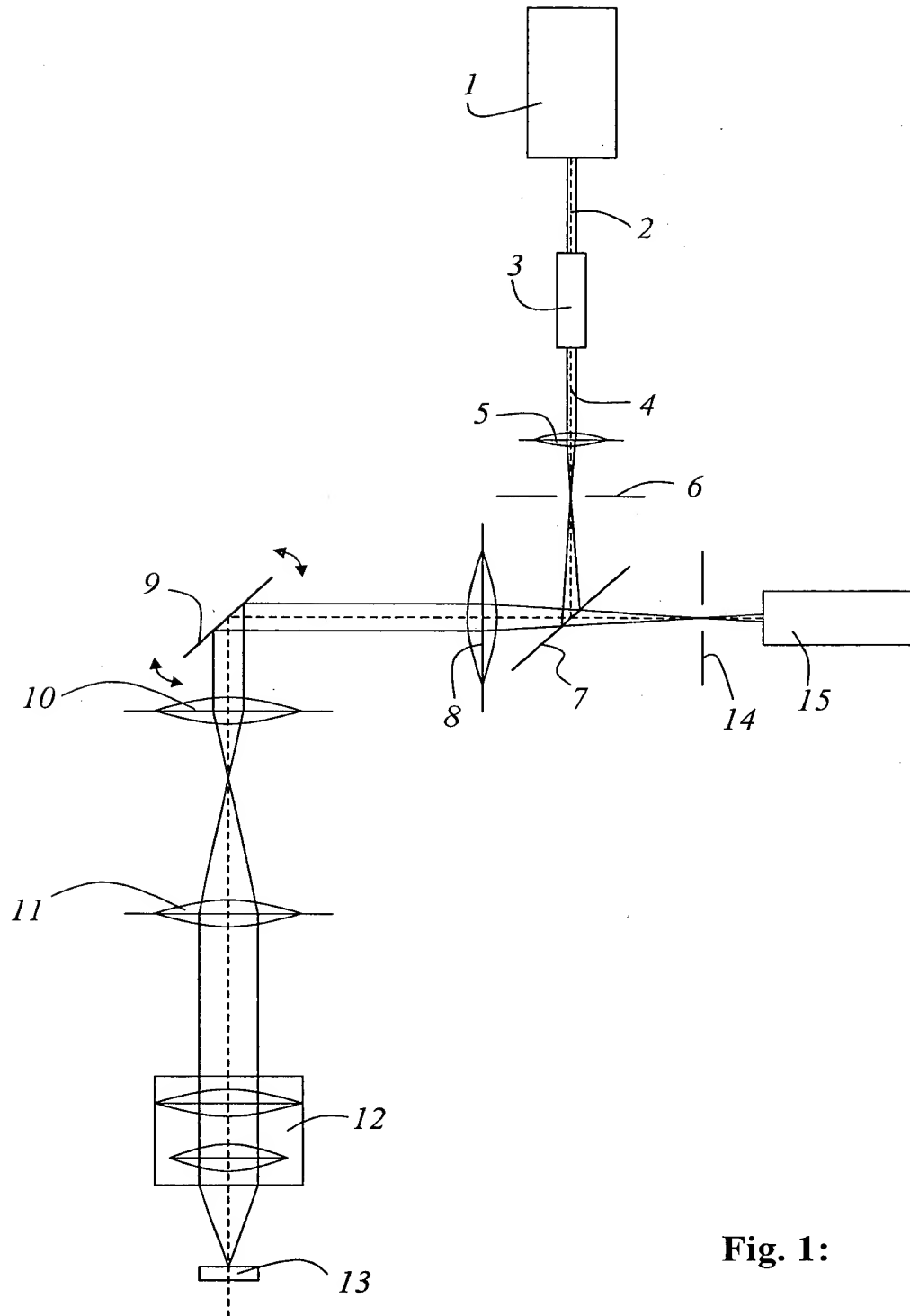
17. Beleuchtungseinrichtung nach Anspruch 16, **dadurch gekennzeichnet**, dass das Austrittsende (20b) der Lichtleitfaser (20) als Beleuchtungsblende dient.
18. Beleuchtungseinrichtung nach einem der Ansprüche 15
5 bis 17, **dadurch gekennzeichnet**, dass der Laser (1) ein Puls laser ist.

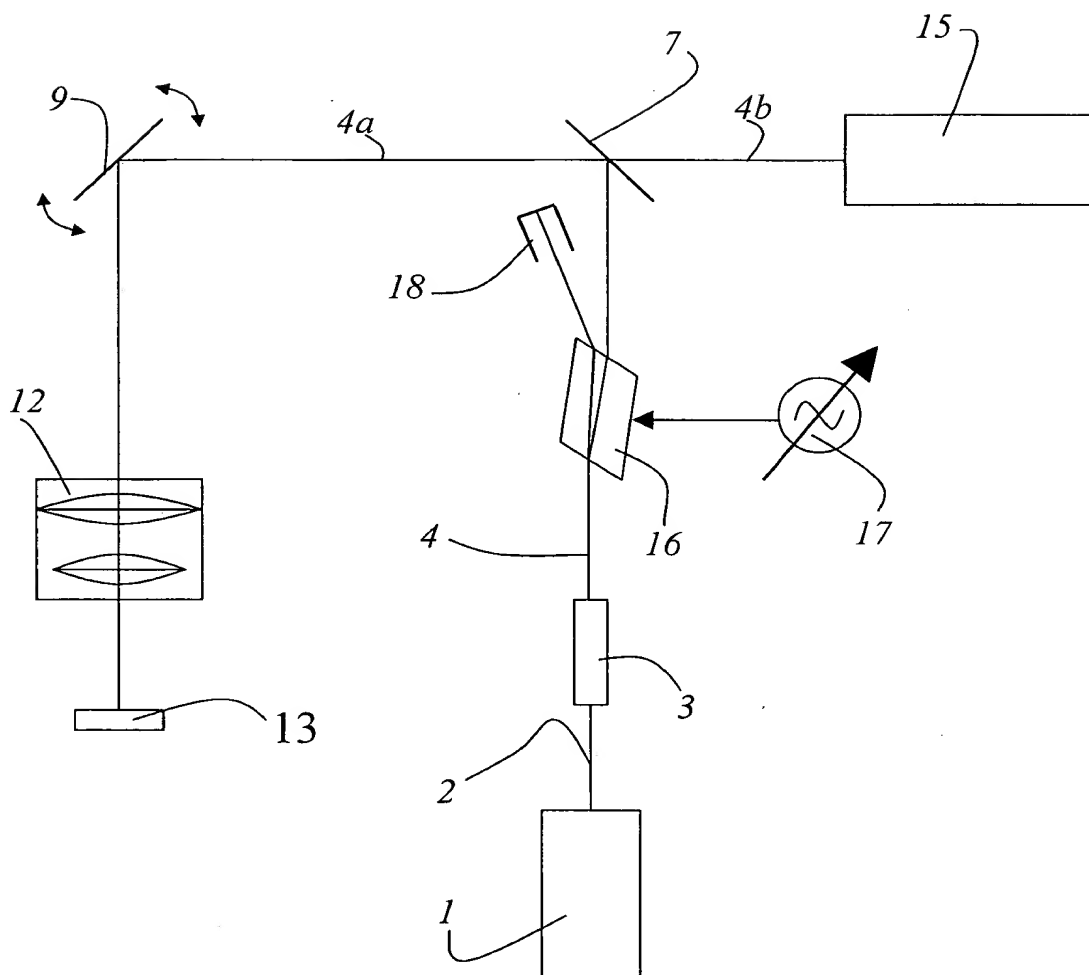
Zusammenfassung

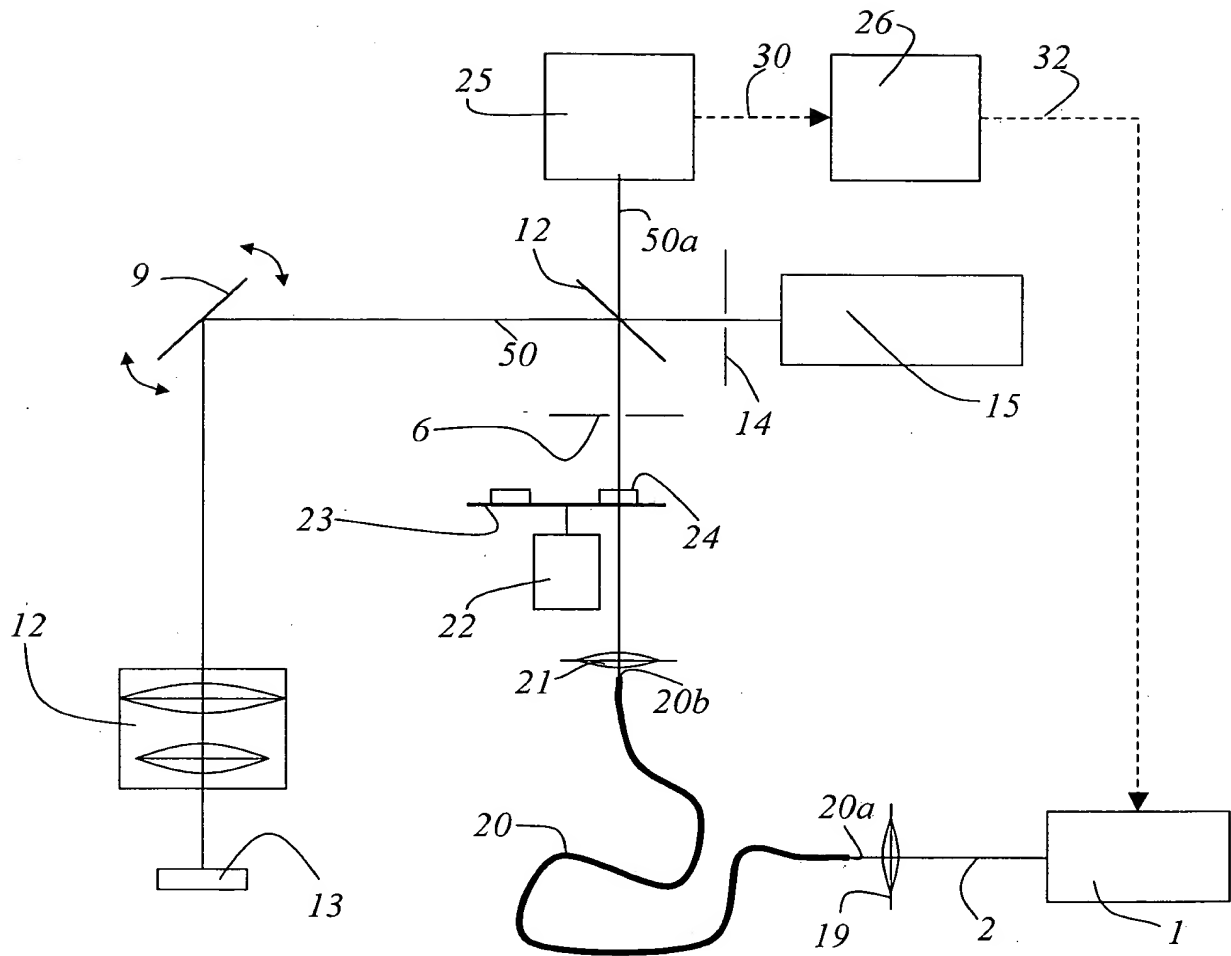
Die Anordnung zum Untersuchen mikroskopischer Präparate mit einem Scanmikroskop besteht aus einem Laser (1) und einem optischen Mittel (12), das das von dem Laser (1) erzeugte Licht auf eine zu untersuchende Probe (13) abbildet. Zwischen dem Laser (1) und dem optischen Mittel (12) ist ein optisches Bauelement (3, 20) vorgesehen, das das vom Laser (1) erzeugte Licht bei einmaligem Durchlauf spektral verbreitert. Das optische Bauelement (3, 20) besteht aus photonic-band-gap-material. Besonders vorteilhaft ist es, wenn das photonic-band-gap-material als Lichtleitfaser (20) ausgestaltet ist.

10

Fig. 1

**Fig. 1:**

**Fig. 2:**

**Fig. 3:**